

5. Zusammenfassung

Wie frühere Studien zeigten, hebt sich der Wachstums- und Differenzierungsfaktor GDF-3 (*growth and differentiation factor 3*) von den übrigen Mitgliedern der TGF β Superfamilie durch sein einzigartiges Expressionsmuster ab: Die GDF-3 Expression in adulten Mäusen ist mit Ausnahme des Fettgewebes auf lymphatische Gewebe beschränkt. Über die Funktion des Proteins war dennoch nichts bekannt. Ziel dieser Arbeit war es, die Rolle von GDF-3 in lymphatischen Geweben zu untersuchen.

Eine Kombination aus MACS Technologie (*magnetic cell sorting*) und quantitativer LightCycler PCR ermöglichte es, die GDF-3 exprimierenden Zellen aus einer Vielzahl von Zellpopulationen zu ermitteln und anhand ihrer Oberflächenmarker zu charakterisieren. Es handelt sich um adhärenz wachsende, B220/Thy1.2/CD11b/CD11c/CD45 negative Zellen, d.h. Nicht-Leukozyten. Mit Hilfe der *in situ* Hybridisierung, bei der *antisense* RNA als Sonde für GDF-3 verwendet wurde, konnten die GDF-3 exprimierenden Zellen in Gefrierschnitten der Milz eindeutig als Stromazellen der roten Milzpulpa identifiziert werden.

In einer Reihe von *in vitro* Stimulationsexperimenten zeigte LPS (*Lipopolysaccharid*) eine deutlich negative Wirkung auf die GDF-3 Expression in Milzzellen. Es kann sich dabei um einen direkten oder indirekten regulatorischen Effekt handeln.

Durch gezielte Depletion spezifischer Zellpopulationen konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass zur konstitutiven Expression von GDF-3 die Anwesenheit von CD11b, CD11c und DX5 positiven Zellen unbedingt erforderlich ist, während B und T Lymphozyten keine Rolle spielen. CD11b positive Zellen konnten immunohistochemisch in Gefrierschnitten der Milz nachgewiesen werden. Ihre Ko-Lokalisation mit den GDF-3 exprimierenden Stromazellen spricht dafür, dass CD11b positive Zellen die Regulation der GDF-3 Expression unmittelbar beeinflussen. Vermutlich wird die GDF-3 Expression durch den direkten Zellkontakt mit CD11b positiven Zellen aufrechterhalten. Denn der negative Effekt der CD11b Depletion lässt mit der Zugabe von Kulturüberstand von Gesamtmilz nicht kompensieren. Lediglich durch die Wiederaufführung der CD11b positiven Zellen, nicht aber durch den Gesamtmilz-Überstand ließ sich die GDF-3 Expression wiederherstellen. Daher handelt es sich offenbar nicht um sezernierte Faktoren, welche für die konstitutive GDF-3 Expression verantwortlich sind.

Die Experimente unterstützen die Hypothese, dass GDF-3 einen Teil des Ensembles von Wachstums- und Differenzierungsproteinen darstellt, welches die Prozesse der Immunabwehr steuert.